

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 60-180581
(43)Date of publication of application : 14.09.1985

(51)Int.Cl.

C12N 1/20
// (C12N 1/20
C12R 1:02)

(21)Application number : 59-035327
(22)Date of filing : 28.02.1984

(71)Applicant : NAKANO VINEGAR CO LTD
(72)Inventor : TSUBURAYA ETSUZO
FUJIYAMA SEIICHI
OMORI SHOJI
MASAI HIROSHI

(54) NOVEL BACTERIAL STRAIN ACETOBACTER ALTOACETIGENES

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a novel microbial strain, *Acetobacter altoacetigenes*, requiring acetic acid as a component of culture medium at a concentration higher than a specific level, capable of proliferating in an acidic condition of lower than a specific pH level, and capable of producing white vinegar having excellent taste and flavor at a high acetic acid concentration in high efficiency.

CONSTITUTION: A soft agar medium [medium (a)] composed of yeast extract, polypeptone, glucose, acetic acid, ethanol and agar is prepared beforehand. The concentrations of acetic acid and agar in the medium are 6.5W/V% and 0.5W/V%, respectively. The medium (a) is coated with thin layer of a medium (b) having the same composition as the medium (a) provided that the agar concentration is 1W/V%. An unrefined vinegar is smeared to the surface of the obtained agar plate medium, and cultured at 90W100%RH and 30° C for 7W30 days to form colonies of the bacteria. The titled novel bacterial strain can be separated by repeating the separation of the colonies. A representative strain of the bacteria is *Acetobacter altoacetigenes* MH-24 (FERMBP No.491). It is essential to select the acetic acid concentration and pH of the above medium to $\geq 4\text{W/V\%}$ and ≤ 3.5 .

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-180581

⑬ Int. Cl.⁴
C 12 N 1/20
//C 12 N 1/20
C 12 R 1:02

識別記号

庁内整理番号

7115-4B

⑭ 公開 昭和60年(1985)9月14日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全8頁)

⑮ 発明の名称 新菌種アセトバクター・アルトアセチゲネス

⑯ 特 願 昭59-35327

⑰ 出 願 昭59(1984)2月28日

⑱ 発 明 者	円 谷 悦 造	半田市横川町2丁目44番地の1
⑲ 発 明 者	藤 山 清 一	愛知県知多郡武豊町豊成2丁目141番地
⑳ 発 明 者	大 森 昭 治	愛知県丹羽郡大口町豊田字堀尾関27番地の3
㉑ 発 明 者	正 井 博 司	半田市雁宿町2丁目110番地の4
㉒ 出 願 人	株式会社中基酢店	半田市中村町2丁目6番地
㉓ 代 理 人	弁理士 久保田 藤郎	

明 細 書

1. 発明の名称

新菌種アセトバクター・アルトアセチゲネス

2. 特許請求の範囲

生育するための培地の成分として4重量/容量%以上の酢酸を要求し、かつpH3.5以下でのみ生育する新菌種アセトバクター・アルトアセチゲネス。

3. 発明の詳細な説明

本発明は新菌種アセトバクター・アルトアセチゲネス(*Acetobacter altoacetigenes*)に関し、さらに詳しくは酢酸発酵、とりわけホワイトビネガー等の高酢酸濃度の食酢の醸造に有用な新菌種アセトバクター・アルトアセチゲネスに関する。

従来、ホワイトビネガー等の高酢酸濃度の食酢醸造に使用される酢酸菌を純粋に分離、保存することは不可能であったため、これら酢酸菌の保存、培養は、酢酸発酵終了液もしくは酢酸発酵中の発酵液である発酵液をそのまま保存する方法、すなわち種酢法が用いられていた。このような種酢に

よる保存方法では高濃度の酢酸生成活性を有する菌は急速に死滅し、大容量の発酵液が必要であるという欠点があった。また、種酢法では純粋培養が困難であり、不良菌による汚染からくる生産工程での生産効率の低下がしばしば生じ、複雑な発酵管理が余儀なくされるという欠点があった。

そこで本発明者らはこれらの欠点を解消すべく鋭意研究した結果、従来、純粋分離が困難とされていた生産効率が高く、高酢酸濃度の食酢生産に適した酢酸菌を食酢発酵液より初めて純粋分離することに成功し、種酢によらない方法での保存をも可能ならしめた。

さらに、本発明者らが得た分離菌の細菌学的特性を調べた結果、該分離菌が酢酸菌の中のアセトバクター属に属する新菌種であることが見出された。

さらに、この分離菌をスターターとして使用して高酢酸濃度ホワイトビネガーを純粋培養にて生産したところ、(イ) 香味の優れた高酢酸濃度ホワイトビネガーが生産できること、(ロ) 発酵が

安定し、(ハ)発酵中の発泡がなく発酵管理が容易である等の種々の効果が見出された。

この結果より、本発明者らが食酢醸造菌より分離した新菌種は従来の種酢法によることなくこれをスターターとして使用して純粋培養を行うことにより、品質の優れたホワイトビネガーの生産がより容易になるという食酢製造上極めて有用な微生物であることが判明し、これらの知見にもとづいて本発明を完成するに至ったのである。

次に、本発明をさらに詳細に述べる。

本発明者らが採用した分離方法の一例を示す次の通りである。

酵母エキス0.2%(w/v)、ポリペプトン0.3%(w/v)、グルコース1.5%(w/v)、酢酸6.5%(w/v)、エタノール2%(v/v)および寒天0.5%(w/v)からなる軟寒天培地(以下、a培地と略称する。)上に、該a培地における寒天濃度を1%(w/v)に置換した培地(以下、b培地と略称する。)を薄く重層した寒天平板培地(以下、AB寒天培地と略称する。また、AB寒天培地から寒天だけ

を除いた培地をAB液体培地と略称する。)に食酢発酵醪を表面塗抹し、湿度95~100%、温度30℃の恒温恒湿器中で7~30日間培養することにより菌体の集落を形成させ、単集落分離を繰り返すことにより本発明に係る新菌種を純粋に分離した。

本菌種は後記するように新菌種であったので、アセトバクター・アルトアセチゲネスと命名し、代表的な菌株アセトバクター・アルトアセチゲネス MH-24(*Acetobacter altoacetigenes* MH-24)を微工研に寄託した。MH-24の受託番号は微工研発第 491号(以下、MH-24と略称する。)である。

本発明の新菌種アセトバクター・アルトアセチゲネスに属する菌株の1例としてのMH-24の細菌学的性質を以下に示す。

a) 形態(AB寒天培地を用い温度30℃、湿度95~100%の恒温恒湿器中で10日間培養)

(1) 細胞の形および大きさ: 桿菌, 0.5 μ m \times 0.8~1.3 μ m, 単一

または2連、稀にわん曲細胞や伸長細胞が認められる。

- (2) 運動性: なし
- (3) ペン毛着生: なし
- (4) 胞子形成: なし
- (5) グラム染色性: 陰性
- (6) 抗酸性: 陰性

b) 各種培地における生育状態

- (1) 肉汁寒天培地: 生育せず
- (2) 肉汁寒天斜面培地: 生育せず
- (3) 肉汁液体培地: 生育せず
- (4) 肉汁ゼラチン穿刺培養: 生育せず、液化せず
- (5) リトマスミルク: 変色なし
- (6) AB寒天培地: 生育は遅いが生育状態は適度、表面の状態は円滑、色状は灰白色から淡褐色、集落は小さく点状
- (7) AB液体培地: 通気攪拌または瓶とう培養により弱く生育し混濁する。酢

置培養では生育せず。

c) 生理学的性質(以下、断りのない場合はAB寒天培地およびAB液体培地を基礎培地として試験した。)

- (1) 硝酸塩の還元: 陰性
- (2) 靱酸反応: 陰性
- (3) VPテスト: 陰性
- (4) インドールの生成: 陰性
- (5) 硫化水素の生成: 陰性
- (6) デンプンの加水分解: 陰性
- (7) クエン酸の利用(Koserの培地およびChristensenの培地): 陰性
- (8) 無機窒素源の利用: 陰性
- (9) 色素の生成: 陰性
- (10) ウレアーゼ: 陰性
- (11) オキシダーゼ: 陰性
- (12) カタラーゼ: 陽性
- (13) 酸素に対する態度: 絶対好気性
- (14) 生育pH域: pH2.2~pH3.5(水酸化ナトリウムおよび塩酸でAB寒天培地のpHを調整

した。酢酸を除き塩酸またはりん酸
および水酸化ナトリウムで調整した
場合は、上記pH域でも生育しない。)

- (15) 生育温度域: 15~35℃
(16) ビタミン要求性: 有り
(17) 生育酢酸濃度: 4~10% (w/v)
(18) 炭水化物の質化性: (下記の(1)、(2)、(4)~
(15)はグルコース欠A B寒天培地、(17)~(22)は
エタノール欠A B寒天培地により判定した。)
(1) L-アラビノース: -
(2) D-キシロース: -
(3) D-グルコース: +
(4) D-マンノース: -
(5) D-フラクトース: +
(6) D-ガラクトース: -
(7) 麦芽糖: -
(8) ショ糖: +
(9) 乳糖: -
(10) トレハロース: -
(11) D-ソルビット: +

- (12) D-マンニット: +
(13) イノシット: -
(14) グリセリン: -
(15) デンブソ: -
(16) エタノール: +
(17) プロパノール: +
(18) イソプロパノール: +
(19) ブタノール: -
(20) イソブタノール: -
(21) アミルアルコール: -
(22) イソアミルアルコール: -
(19) エタノールの酸化(A B液体培地での酢酸生
成): 陽性
(20) エタノールの過酸化(A B液体培地での生
成酢酸の減少): 陰性
(21) 酢酸の質化(A B液体培地での酢酸の減少)
: 陰性
(22) 酢酸の分解(酢酸を基質としたときの酸素吸
収および酢酸塩のアルカリ化): 陰性
(23) 乳酸の質化(酢酸を乳酸に代替したA B液体

培地での生育および乳酸添加A B液体培地での乳
酸の減少): 陰性

(24) 乳酸の分解(乳酸を基質としたときの酸素吸
収および乳酸塩のアルカリ化): 陰性

(25) グリセロールからのジオキシアセトン生成
: 陰性

(26) グルコン酸生成: 陽性(0.3% (w/v)以上)

(27) 2-ケトグルコン酸生成: 弱陽性(0.1% (w
/v)以下)

(28) 5-ケトグルコン酸生成: 陰性

(29) 2, 5-ジケトグルコン酸生成: 陰性

(30) グルコースからのγ-ピロン生成: 陰性

(31) セルロース生成: 陰性

(32) ホイヤー・フラトウール・エタノール培地
(ビタミン混液添加)での生育: 陰性

(33) ホイヤー・フラトウール・グルコース培地
(ビタミン混液添加)での生育: 陰性

(34) 酢酸の要求性: 陽性(酢酸欠A B寒天培地で
は生育しない)

(35) エタノールの要求性: 陽性(エタノール欠A

B寒天培地では生育しない)

(36) グルコースの要求性: 陽性(グルコース欠A
B寒天培地では生育しない)

4) 化学分類学的性質

(1) 菌体脂肪酸組成(%): 14: 0...1.3,

16: 0...13.9,

17: 0...微量

(1.0未満),

18: 0...5.4,

16: 1...1.0,

18: 1...65.5,

2 OH-14...4.8,

3 OH-14...微量

2 OH-16...7.3

(2) ユビキノ系: Q₁₀.

(3) DNAのGC含量(融解温度T_mより算出
した.): 57.9mol%

(4) ユビキノ系がQ₁₀ないしはQ₁₀ (Q₉)である
類縁酢酸菌とのDNA相同性(メンブレンフィ
ルター法により測定した.): グルコノバクテ
ー・オキシダンス・サブスピーシーズ・オキシ

ダンス A T C C 19357 (*Gluconobacter oxydans* subsp. *oxydans* A T C C 19357) . . . 17%
 アセトバクター・アセチ・サブスピーシズ・キシリヌム I F O 3288 (*Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* I F O 3288) . . . 39%
 アセトバクター・アセチ・サブスピーシズ・リクエファシエンシス I A M 1834 (*Acetobacter aceti* subsp. *liquefaciens* I A M 1834) . . 11%
 本発明の菌株は上記の如くグラム陰性の絶対好気性桿菌であり、pH2.2 でも生育し、エタノールを酢酸に酸化することによりバージェイズ・マニュアル・オブ・デターミナティブ・バクテリオロジー (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology)、第8版(1974)に従うと、アセトバクター (*Acetobacter*) 属またはグルコノバクター (*Gluconobacter*) 属に属する酢酸菌であると判断される。



において、アセトバクター属は菌体脂肪酸として $C_{16:0}$ を含み、グルコノバクター属はこれを含まないことが示されているが、MH-24は $C_{16:0}$ を含んでおり、その点でもアセトバクター属に近い。従って、MH-24はアセトバクター属に属する細菌である可能性も残されている。なお、インターナショナル・ジャーナル・オブ・システムティック・バクテリオロジー (International Journal of Systematic Bacteriology)、第30巻、547 ~ 556 頁(1980)において酢酸菌の新属としてフラトウリア (*Fratauria*) 属が提唱されたが、この属はユビキノ系が Q_0 であり、しかも菌体脂肪酸として 1-15:0 を含む等の点で MH-24 とは明らかに異っている。

(イ) ザ・ジャーナル・オブ・ジェネラル・アンド・アプライド・マイクロバイオロジー、第15巻、181 ~ 196 頁(1969)および(ロ) 同誌、第22巻、285 ~ 292 頁(1976)には主要なユビキノ Q_{10} を含む酢酸菌はグルコノバクター属の全てと、アセトバクター属のアセトバクター・アセチ・サ

さらに、エタノールの過酸化、酢酸の還元、酢酸の分解、乳酸の還元、乳酸の分解活性を示さないことおよびユビキノ系が Q_{10} であることからグルコノバクター属に属するものと判断される。しかし、生育するための培地の成分として4重量/容量%以上の酢酸とエタノールおよびグルコースを同時に要求し、pH3.5 以下でのみ生育するという特異な性質を有しているため、特殊な培地条件を設定する必要がある、見かけ上エタノールの過酸化、酢酸の還元、酢酸の分解、乳酸の還元、乳酸の分解等の活性が陰性となっている可能性も完全に否定することはできない。また後記の実験例1、実施例1に示した様にMH-24は極めて強いエタノール酸化能を有しており、その点ではグルコノバクター属よりむしろアセトバクター属に近いと思われる。さらに、ザ・ジャーナル・オブ・ジェネラル・アンド・アプライド・マイクロバイオロジー (The Journal of General and Applied Microbiology)、第27巻、405 ~ 417 頁(1981)に

ブスピーシズ・キシリヌム (本菌の種、亜種名はバージェイズ・マニュアル・オブ・デターミナティブ・バクテリオロジー第8版およびアブルーブ・リスツ・オブ・バクテリアル・ネームス (Approved Lists of Bacterial Names) (インターナショナル・ジャーナル・オブ・システムティック・バクテリオロジー、第30巻、225 ~ 420 頁(1980)) 記載によるものであり、前者 (イ) 文献ではアセトバクター・キシリヌム (*Acetobacter xylinum*)、後者 (ロ) 文献ではアセトバクター・キシリヌム・サブスピーシズ・キシリヌム (*Acetobacter xylinum* subsp. *xylinum* とされている。) およびアセトバクター・アセチ・サブスピーシズ・リクエファシエンシス (本菌の種、亜種名はバージェイズ・マニュアル・オブ・デターミナティブ・バクテリオロジー第8版およびアブルーブ・リスツ・オブ・バクテリアル・ネームス (インターナショナル・ジャーナル・オブ・システムティック・バクテリオロジー、第30巻、225 ~ 420 頁(1980)) 記載によるものであり、前者 (イ) 文献で

は周べん毛の中間株、後者(ロ)文献ではアセト
 バクター・キシリヌム・サブスピーシーズ・リク
 エファシエンシス(*Acetobacter xylinum* subsp.
liquefaciens)とされている。)であることが示さ
 れており、これらの細菌との類縁性が思慮される。
 そこでアメリカン・タイプ・カルチャー・コレク
 ション(ATCC)、発酵研究所(IFO)お
 よび東京大学応用微生物学研究所(IAM)から
 分譲を受けた基準株を含む保存菌株とMH-24を
 比較したが、表-1に示したように、明らかに保
 存菌株とMH-24とは相違していた。すなわち、
 生育するための培地の成分として、重量/容量%
 以上の酢酸を要求し、pH3.5以下でのみ生育す
 るという特徴を有する点、さらには生育にエタノ
 ールを要求し、グリセロールからのジオキシアセ
 トンの生成、5-ケトグルコン酸の生成がない点
 でも相違している。アセトバクター属であるアセ
 トバクター・アセチ・サブスピーシーズ・キシリ
 ヌム IFO3288, アセトバクター・アセチ・サブ
 スピーシーズ・リクエファシエンシス IAM1834とは

エタノールの過酸化、酢酸の還元、酢酸の分解、
 乳酸の還元、乳酸の分解活性を示さない点、グル
 コノバクター属であるグルコノバクター・オキシ
 ダンス・サブスピーシーズ・オキシダンス ATCC
 19357, グルコノバクター・オキシダンス・サブ
 スピーシーズ・サブオキシダンス(*Gluconobacter*
oxydans subsp. *suboxydans*) IFO3990, グルコ
 ノバクター・オキシダンス・サブスピーシーズ・
 インダストリウス(*Gluconobacter oxydans* subsp.
industrius) IFO3260, グルコノバクター・オキシ
 ダンス・サブスピーシーズ・メラノゲネス
 (*Gluconobacter oxydans* subsp. *melanogenes*)
 IFO3293, グルコノバクター・オキシダンス・
 サブスピーシーズ・スファエリクス(*Gluconobacter*
oxydans subsp. *sphaerica*) IFO12467 とは
 菌体脂肪酸としてC_{16:0}を含む点、さらにグルコ
 ノバクター・オキシダンス・サブスピーシーズ・
 メラノゲネス IFO3293, グルコノバクター・オ
 キシダンス・サブスピーシーズ・スファエリクス
 IFO12467, アセトバクター・アセチ・サブス

スピーシーズ・リクエファシエンシス IAM1834とは
 褐色色素、2, 5-ジケトグルコン酸およびグル
 コースからのアーピロンをそれぞれ生成しない点
 、グルコノバクター・オキシダンス・サブスピー
 シーズ・スファエリクス IFO12467 とは菌形
 態が棒状である点、アセトバクター・アセチ・サ
 ブスピーシーズ・キシリヌム IFO3288とはセ
 ルロースを生成しない点で相違している。その他
 にDNAのGC含量についてもグルコノバクター
 ・オキシダンス・サブスピーシーズ・インダスト
 リウス IFO3260以外の6株の比較株は60%以
 上であり、MH-24の57.9%とは差異が認められる。

さらに、グルコノバクター・オキシダンスの5
 亜種は、インターナショナル・ジャーナル・オブ
 ・システムティック・バクテリオロジー、第33巻
 、65~81頁(1983)において、グルコノバクター・
 オキシダンスとされ、亜種への細分を取り消すこ
 とが提唱されていること、アセトバクター・アセチ
 ・サブスピーシーズ・キシリヌムは、ザ・ジャーナ
 ル・オブ・ジェネラル・アンド・アプライド・マ

イクロバイオロジー、第29巻、417~420頁
 (1983)において、アセトバクター・キシリヌス
 (*Acetobacter xylinus*)とされ、アセトバクター
 ・アセチ(*Acetobacter aceti*)とは別種とすること
 が提唱されていること、アセトバクター・アセチ
 ・サブスピーシーズ・リクエファシエンシスは、シ
 ステマティック・アンド・アプライド・マイクロ
 バイオロジー、第4巻、338~368頁(1983)、ザ
 ・ジャーナル・オブ・ジェネラル・アンド・アプ
 ライド・マイクロバイオロジー、第29巻、327~
 333頁(1983)の両誌において、アセトバクター・リ
 クエファシエンシス(*Acetobacter liquefaciens*)とさ
 れ、アセトバクター・アセチとは別種とすること
 が提唱されている等の最近の分類学上の背景も考
 慮し、MH-24とグルコノバクター・オキシダ
 ス・サブスピーシーズ・オキシダンス ATCC
 19357(基準株)、アセトバクター・アセチ・サ
 ブスピーシーズ・キシリヌム IFO3288, アセ
 トバクター・アセチ・サブスピーシーズ・リク
 エファシエンシス IAM1834(基準株)とのDNA相

同性を検討したが、全て39%以下であり、明らかに別種であると判断された。

以上の細菌学的性質よりMH-24はグルコノバクターまたはアセトバクター属に属する新種と認められるが、本発明者らはエタノールの過酸化、酢酸の還元、酢酸の分解、乳酸の還元、乳酸の分解活性を示さないという生理学的性質よりも、むしろ菌体脂肪酸としてアセトバクター属の特徴とされているC_{16:0}を含有しており、しかもMH-24とグルコノバクター属であるグルコノバクター・オキシダンス・サブスピーシズ・オキシダンス ATCC 1935とのDNA相同性が17%と低いのに対し、アセトバクター属であるアセトバクター・アセチ・サブスピーシズ・キシリヌム IF 03288とのDNA相同性は39%であるという化学分類学的性質を重視し、MH-24を代表株とする新種をアセトバクター属に属するものと判断し、アセトバクター・アルトアセチゲネスと命名した。

本発明の新菌種を用いてホワイトビネガー等の

食酢を製造する場合に特別な条件を設定する必要がない。むしろ、発酵が安定しており、かつ発酵中に発泡が生じないため発酵管理が容易である。

本発明の新菌種を用いることにより、高酢酸濃度で香味の優れたホワイトビネガーを効率よく製造することができる。

次に、実験例、実施例により本発明を説明する。
実験例1

酵母エキス0.2%(w/v)、ポリペプトン0.3%(w/v)、グルコース1.5%(w/v)、酢酸6.5%(w/v)およびエタノール6.5%(v/v)からなる液体培地100mlを500ml容坂口フラスコに調製し、加温殺菌を行った。この液体培地を冷却後、表-2に示した本発明の代表株であるMH-24を含む17株の代表的な酢酸菌を、MH-24についてはAE寒天培地での新鮮な生育菌体を接種し、その他の16菌株については酵母エキス0.2%(w/v)、ポリペプトン0.3%(w/v)、グルコース3%(w/v)および寒天1.5%(w/v)からなる斜面培地での新鮮な生育菌体を接種して、温度30℃で振とう培養

を5日間行った。

表-2に菌の生育および最終酢酸濃度ならびに最終酢酸濃度から初発酢酸濃度(酢酸濃度6.5%(w/v))を除いた酢酸生成量を示した。表-2から明らかなように、MH-24だけに菌の生育が認められ、6.0%(w/v)の酢酸を生成し、最終酢酸濃度は12.5%に達した。

以上の実験例から明らかなように、本発明による新菌種によって純粋培養による高酸度食酢を生産することが可能であることが判明した。

実施例1

10l容の通気発酵装置に、アルコール、水、酢酸発酵液および酢酸菌の栄養物を用いて酢酸濃度が6.5%(w/v)、アルコール濃度が6.5%(v/v)となるように調製した醪7.2lを仕込み、加温殺菌を行ったのち、30℃に温度調節し、0.1vvmの通気量で通気攪拌を行った。その後、実験例1と同様の操作で調製した酢酸濃度が8%(w/v)に達した時点でのMH-24の培養液0.8lを接種して発酵を開始した。酢酸濃度が11.5%(w/v)となっ

た時点で、通気攪拌を中断することなく、約4lの醪を残して、他は通気発酵装置から抜取り、新たにアルコール、水、酢酸発酵液および酢酸菌の栄養物を用いて酢酸濃度1%(w/v)、アルコール濃度4.5%(v/v)となるように調製した原料醪を約4l加入原料醪再充填後の通気攪拌装置内の醪の酢酸濃度を約6.3%(w/v)、アルコール濃度を約2%(v/v)となるようにした。

酢酸発酵の進行により酢酸濃度が増加し、逆にアルコール濃度は減少したが通気発酵装置内の醪のアルコール濃度が2%前後を維持する様に原料醪と同じ組成の栄養源を含む50%(v/v)のアルコール含有液を添加し、15%(w/v)の酢酸濃度が得られるに十分な全濃度約15.5%になった時点でアルコール含有液の添加を止め、さらに発酵を継続させることにより酢酸濃度が15%(w/v)、アルコール濃度が0.3%(v/v)の酢酸発酵液が得られた。

本実施例により得られた高酢酸濃度のホワイトビネガーは、異味、異臭の全くない優れた品質の食酢であることが確認された。

表 - 1

性 質	株 名	グルコノバクター・ オキシダンス・ サブスピーシーズ・ オキシダンス ATCC 19357	グルコノバクター・ オキシダンス・ サブスピーシーズ・ サブオキシダンス IFO 3990	グルコノバクター・ オキシダンス・ サブスピーシーズ・ インダストリウス IFO 3260	グルコノバクター・ オキシダンス・ サブスピーシーズ・ メラノゲネス IFO 3293	グルコノバクター・ オキシダンス・ サブスピーシーズ・ スファエリクス IFO 12457	アセトバクター・ アセチ・ サブスピーシーズ・ キシリナム IFO 3288	アセトバクター・ アセチ・ サブスピーシーズ・ リクエファシエンシス IAM 1834
菌 形 態	桿 状	桿 状	桿 状	桿 状	桿 状	桿 状	桿 状	桿 状
エタノールの過酸化	-	-	-	-	-	-	+	+
酢酸の酸化	-	-	-	-	-	-	+	+
酢酸の分解	-	-	-	-	-	-	+	+
乳酸の酸化	-	-	-	-	-	-	+	+
乳酸の分解	-	-	-	-	-	-	+	+
5-ケートグルコン酸の生成	-	+	+	+	+	+	+	+
2, 5-ジケートグルコン酸の生成	-	-	-	-	+	+	-	+
グルコースからの7-ピロンの生成	-	-	-	-	+	+	-	+
褐色色素の生成	-	-	-	-	+	+	+	-
セルロースの生成	-	-	-	-	-	-	+	+
グリセロールからのジオキシアセトンの生成	-	+	+	+	+	+	+	+
生育する最適濃度 (g/w/v)	4~10	0~0.5	0~0.5	0~0.5	0~0.5	0~0.5	0~1	0~0.5
耐酸の要求性	+	-	-	-	-	-	-	-
エタノールの要求性	+	-	-	-	-	-	-	-
pH 4~7の範囲での生育	-	+	+	+	+	+	+	+
ユビキノリン系	Q ₁₀	Q ₁₀	Q ₁₀	Q ₁₀	Q ₁₀	Q ₁₀	Q ₁₀	Q ₁₀ (Q ₉)
固相培養法としてのC ₁₀ の含有量 (%)	1.3	ND	ND	ND	ND	ND	4.4	7.5
DNAのGC含有量 (mol %)	57.9	60.6	60.6	58.9	62.0	61.5	62.5	64.5
DNAの相溶性 O/D	100	17	—	—	—	—	39	11

+ : 陽性 - : 陰性 ND : 検出されず — : 測定せず

MH-24を除く(即ち菌株の菌株識別法としてのC₁₀の含有量。DNAのGC含有量は各々、ザ・ジャーナル・オブ・ジェネラル・アンド・アプライド・マイクロバイオロジー、第27巻、405~417頁(1981)、同誌第27巻、465~475頁(1981)より引用した。

表 - 2

供 試 菌 株	生 育	耐酸生成量 (g/w/v)	耐熱耐酸濃度 (g/w/v)
本発明の代表株 MH-24	+	6.0	12.5
グルコノバクター・オキシダンス・サブスピーシーズ・オキシダンス ATCC 19357 (<i>Gluconobacter oxydans</i> subsp. <i>oxydans</i>)	-	0	6.5
グルコノバクター・オキシダンス・サブスピーシーズ・サブオキシダンス IFO 3990 (<i>Gluconobacter oxydans</i> subsp. <i>suboxydans</i>)	-	0	6.5
グルコノバクター・オキシダンス・サブスピーシーズ・インダストリウス IFO 3260 (<i>Gluconobacter oxydans</i> subsp. <i>industrius</i>)	-	0	6.5
グルコノバクター・オキシダンス・サブスピーシーズ・メラノゲネス IFO 3293 (<i>Gluconobacter oxydans</i> subsp. <i>melanogones</i>)	-	0	6.5
グルコノバクター・オキシダンス・サブスピーシーズ・スファエリクス IFO 12457 (<i>Gluconobacter oxydans</i> subsp. <i>sphaericus</i>)	-	0	6.5
アセトバクター・アセチ・サブスピーシーズ・アセチ ATCC 15973 (<i>Acetobacter aceti</i> subsp. <i>aceti</i>)	-	0	6.5
アセトバクター・アセチ・サブスピーシーズ・オルレアネンシス IFO 13752 (<i>Acetobacter aceti</i> subsp. <i>orleanensis</i>)	-	0	6.5
アセトバクター・アセチ・サブスピーシーズ・キシリナム IFO 3288 (<i>Acetobacter aceti</i> subsp. <i>xylinum</i>)	-	0	6.5
アセトバクター・アセチ・サブスピーシーズ・リクエファシエンシス IAM 1834 (<i>Acetobacter aceti</i> subsp. <i>liquefaciens</i>)	-	0	6.5
アセトバクター・パスツリアヌス・サブスピーシーズ・パスツリアヌス IFO 3233 (<i>Acetobacter pasteurianus</i> subsp. <i>pasteurianus</i>)	-	0	6.5

表 - 2 (続き)

供 試 菌 株		生 育	酢酸生成量 (g/w/v)	原料糖消費量 (g/w/v)
アセトバクター・パスツリアヌス・サブスピーシーズ・ロバニエンシス (<i>Acetobacter pasteurianus</i> subsp. <i>lovanianus</i>)	IFO 13753	-	0	6.5
アセトバクター・パスツリアヌス・サブスピーシーズ・エスツネンシス (<i>Acetobacter pasteurianus</i> subsp. <i>estunensis</i>)	IFO 13751	-	0	6.5
アセトバクター・パスツリアヌス・サブスピーシーズ・アシェンデンシス (<i>Acetobacter pasteurianus</i> subsp. <i>ascendens</i>)	IFO 3188	-	0	6.5
アセトバクター・パスツリアヌス・サブスピーシーズ・パラドクサス (<i>Acetobacter pasteurianus</i> subsp. <i>paradoxus</i>)	IFO 13754	-	0	6.5
アセトバクター・パーオキシダンス (<i>Acetobacter peroxydans</i>)	IFO 13755	-	0	6.5
フラトカリア・オウランティア (<i>Frateria aurantia</i>)	IFO 3245	-	0	6.5

+ : 生育あり - : 生育なし